

日本国特許庁 PCT/JP 2004/003137
JAPAN PATENT OFFICE 09. 4. 2004

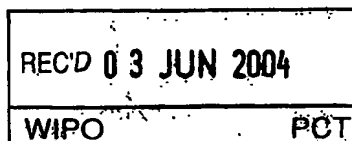
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2003年 3月17日

出願番号
Application Number: 特願2003-072611
[ST. 10/C]: [JP 2003-072611]

出願人
Applicant(s): 関西ティール・エル・オー株式会社

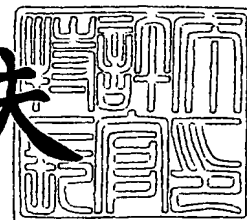


PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 5月20日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 1072003JP

【提出日】 平成15年 3月17日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 B32B 5/16

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府吹田市山田丘 2-1 大阪大学大学院工学研究科
 内

 【氏名】 山本 孝夫

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府吹田市山田丘 2-1 大阪大学大学院工学研究科
 内

 【氏名】 中川 貴

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府吹田市山田丘 2-1 大阪大学大学院工学研究科
 内

 【氏名】 興津 健二

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府吹田市山田丘 2-1 大阪大学大学院工学研究科
 内

 【氏名】 清野 智史

【特許出願人】

 【識別番号】 899000046

 【氏名又は名称】 関西ティー・エル・オー株式会社

【代理人】

 【識別番号】 100065215

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 三枝 英二

 【電話番号】 06-6203-0941

【選任した代理人】

【識別番号】 100076510

【弁理士】

【氏名又は名称】 掛樋 悠路

【選任した代理人】

【識別番号】 100086427

【弁理士】

【氏名又は名称】 小原 健志

【選任した代理人】

【識別番号】 100090066

【弁理士】

【氏名又は名称】 中川 博司

【選任した代理人】

【識別番号】 100094101

【弁理士】

【氏名又は名称】 館 泰光

【選任した代理人】

【識別番号】 100099988

【弁理士】

【氏名又は名称】 斎藤 健治

【選任した代理人】

【識別番号】 100105821

【弁理士】

【氏名又は名称】 藤井 淳

【選任した代理人】

【識別番号】 100099911

【弁理士】

【氏名又は名称】 関 仁士

【選任した代理人】

【識別番号】 100108084

【弁理士】

【氏名又は名称】 中野 睦子

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 001616

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9912218

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子およびその製造法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 貴金属イオンまたは貴金属錯体を含有する液に磁性金属酸化物微粒子を分散させるか、または該磁性金属酸化物を与える金属イオンを添加存在させ、次いで該液に超音波、電離放射線または紫外線を照射することを特徴とする貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子の製造法。

【請求項2】 貴金属イオンまたは貴金属錯体を構成する貴金属が、金、銀、白金、パラジウム、ルテニウム、ロジウム、イリジウムおよびレニウムからなる群から選ばれる金属である請求項1に記載の方法。

【請求項3】 貴金属イオンまたは貴金属錯体を含有する液が、水溶液またはアルコール溶液である請求項1に記載の方法。

【請求項4】 貴金属イオンまたは金属錯体を含有する液が、更に水溶性高分子化合物、界面活性剤および有機溶媒からなる群から選ばれる少なくとも1種の添加剤を含む請求項1に記載の方法。

【請求項5】 磁性金属酸化物微粒子が、 Fe_2O_3 およびフェライトから選ばれる請求項1に記載の方法。

【請求項6】 貴金属イオンまたは貴金属錯体を含有する液中の貴金属イオンまたは貴金属錯体の濃度が、 $1\mu\text{M}$ – 1M であり、磁性金属酸化物微粒子または該磁性金属酸化物を与える金属イオンが、上記液に対して0.001–50重量%となる量で分散または添加される請求項1に記載の方法。

【請求項7】 超音波の照射が、周波数10kHz–10MHz、出力1W以上の条件で行われる請求項1に記載の方法。

【請求項8】 電離放射線または紫外線の照射が、それぞれ吸収線量1J/kg以上の条件で行われる請求項1に記載の方法。

【請求項9】 請求項1に記載の方法によって得られる貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【請求項10】 粒子径1nm–100 μm の磁性金属酸化物微粒子と該微粒子表面に接合された粒子径1–500nmの貴金属ナノ粒子とからなり、磁性を有することを特

微とする貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【請求項11】 液媒に分散可能であり、着色していることを特徴とする請求項10に記載の貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【請求項12】 請求項9に記載の貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子に、更にリンカー分子を結合させてなる官能基を付与された貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【請求項13】 医薬品、抗原、抗体、レセプター、ハプテン、酵素、蛋白質、ペプチド、核酸、ホルモン、病原体および毒素からなる群から選ばれる物質の分析試薬である請求項12に記載の貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【請求項14】 医薬品、診断剤、細胞標識剤、酵素固定剤または蛋白質精製剤である請求項12に記載の貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【請求項15】 クロマトグラフィーに利用される請求項12に記載の貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【請求項16】 土壌改質または水質もしくは大気の浄化に利用される請求項12に記載の貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【請求項17】 触媒、吸着剤またはセンサーに利用される請求項12に記載の貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子およびその製造法に関する。

【0002】

【従来の技術】

粒子径が一般に $1\mu\text{m}$ 以下のナノサイズの粒子(ナノ粒子)を含む微粒子は、従来、主として吸着剤、電子素子材料、触媒などの用途を期待してその研究・開発がなされてきた。現在知られているナノ粒子には、例えば金属(金、銀、銅、白金など)、半導体(CdSe、CdSなど)、磁性材料($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 、 Fe_3O_4 など)、コロイド材料などがある。

【0003】

近年、これらのナノ粒子は、そのサイズの微小さおよび表面積の大きさから、医療・診断分野、バイオテクノロジー分野、環境関連分野などへの応用が期待されてきている。例えば、ドラッグデリバリーシステム(DDS)における薬剤や遺伝子のキャリアとして有望視されている。即ち、通常生体内に注入された粒子は、生体防御機構によって排除されるが、微粒子、特にナノ粒子はこの生体防御機構を回避でき、また血管壁を透過して組織、細胞内にも取り込まれ易い。また、微粒子表面に抗体を固定化すれば、このものは、抗原抗体反応による抗原の検出、分離・精製に役立つ。標識剤などを固定化させた微粒子は、分析用マーカー、トレーサーなどの分析用試薬として有効と考えられる。更に、磁性微粒子は、例えばMRI診断の造影剤などとして、また癌の温熱療法(ハイパーサーミア)にもその有用性が示唆されている。

【0004】

このように、微粒子は、医療・診断分野におけるその活用が期待されているものの、実際には、その調製自体、尚解明されていない複雑なメカニズムを経るものと考えられ、実質的に均一な粒子の集団を、高収率で、安定して、しかも量産することはかなり困難な現状にある。殊に、医療分野などの新しい分野における応用を考慮した場合、好ましい微粒子は、次のような諸性質が要望されるが、現在、そのような要求性能を満たす微粒子はいまだ開発されていない。

- (1) 粒径が微小であること、
- (2) できるだけ均整であること、
- (3) 粒子表面に官能基を付与されるかまたは付与できること、
- (4) 磁性を有すること、
- (5) 人体などに対して安全であること、
- (6) 製造容易で量産できること、
- (7) 粒子サイズに応じて異なる色調を呈すること、
- (8) 耐久性があること、
- (9) 安定性に優れており、取り扱いが容易であること。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、上記要求性能を満たし、殊に医療・診断分野、バイオテクノロジー分野、環境関連分野などへの利用に適した新しい微粒子、およびその製造方法を提供することを目的とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、以前から、金ナノ粒子担持酸化チタン粉末、磁性金属酸化物ナノ粒子などの各種の金属ナノ粒子を研究開発してきた。その過程で、磁性ナノ粒子表面に貴金属原子を接合させ得る新しい複合磁性金属微粒子の製造技術を確立し、この技術によって上記要求性能を満たす新しい微粒子を開発することに成功した。

【0007】

本発明は、下記項1-17に記載の要旨の発明を提供する。

【0008】

項1. 貴金属イオンまたは貴金属錯体を含有する液に磁性金属酸化物微粒子を分散させるか、または該磁性金属酸化物を与える金属イオンを添加存在させ、次いで該液に超音波、電離放射線または紫外線を照射することを特徴とする貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子(以下、この微粒子を単に「本発明微粒子」ということがある)の製造法。

【0009】

項2. 貴金属イオンまたは貴金属錯体を構成する貴金属が、金、銀、白金、パラジウム、ルテニウム、ロジウム、イリジウムおよびレニウムからなる群から選ばれる金属である項1に記載の方法。

【0010】

項3. 貴金属イオンまたは貴金属錯体を含有する液が、水溶液またはアルコール溶液である項1に記載の方法。

【0011】

項4. 貴金属イオンまたは金属錯体を含有する液が、更に水溶性高分子化合物、界面活性剤および有機溶媒からなる群から選ばれる少なくとも1種の添加剤を含む項1に記載の方法。

【0012】

項5. 磁性金属酸化物微粒子が、 Fe_2O_3 およびフェライトから選ばれる項1に記載の方法。

【0013】

項6. 貴金属イオンまたは貴金属錯体を含有する液中の貴金属イオンまたは貴金属錯体の濃度が、 $1\mu\text{M}$ - 1M であり、磁性金属酸化物微粒子または該磁性金属酸化物を与える金属イオンが、上記液に対して0.001-50重量%となる量で分散または添加される項1に記載の方法。

【0014】

項7. 超音波の照射が、周波数10kHz-10MHz、出力1W以上の条件で行われる項1に記載の方法。

【0015】

項8. 電離放射線または紫外線の照射が、それぞれ吸収線量1J/kg以上の条件で行われる項1に記載の方法。

【0016】

項9. 項1に記載の方法によって得られる貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【0017】

項10. 粒子径 1nm - $100\mu\text{m}$ の磁性金属酸化物微粒子と該微粒子表面に接合された粒子径 1 - 500nm の貴金属ナノ粒子とからなり、磁性を有することを特徴とする貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【0018】

項11. 液媒に分散可能であり、着色していることを特徴とする項10に記載の貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【0019】

項12. 項9または項10に記載の貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子に、更にリンカー分子を結合させてなる官能基を付与された貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【0020】

項13. 医薬品、抗原、抗体、レセプター、ハプテン、酵素、蛋白質、ペプチド

、核酸、ホルモン、病原体および毒素からなる群から選ばれる物質の分析試薬である項12に記載の貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【0021】

項14. 医薬品、診断剤、細胞標識剤、酵素固定剤または蛋白質精製剤である項12に記載の貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【0022】

項15. クロマトグラフィに利用される項12に記載の貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【0023】

項16. 土壌改質または水質もしくは大気の浄化に利用される項12に記載の貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【0024】

項17. 触媒、吸着剤またはセンサーに利用される項12に記載の貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【0025】

本発明方法によれば、所望の貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子を、高収率で、安定して、容易に量産することができる。特に、本発明方法によれば、超音波、電離放射線または紫外線を照射する条件を適宜変更することによって、得られる貴金属ナノ粒子の平均粒径を1-500nm程度の範囲から調節することができ、しかも粒径の分布を狭いものとすることができる。

【0026】

かくして得られる本発明微粒子は、粒子径1nm-100 μ mの磁性金属酸化物微粒子と該微粒子表面に接合された粒子径1-500nmの貴金属ナノ粒子とからなり、磁性を有することを特徴としている。また、本発明微粒子は、液媒に分散可能で、安定した分散状態を維持し得、更にその表面プラズモン吸収により着色している特徴を有している。

【0027】

本発明微粒子は、磁性金属酸化物の利用に基づく所望の磁性を有することから、磁気による誘導、捕集、分離などが容易であり、従って、これを利用した試薬

などは容易に磁気分離できる特徴を有している。

【0028】

また、本発明微粒子は、上記磁性金属酸化物表面に接合された貴金属ナノ粒子もしくはその貴金属原子を利用して、これに官能基を付与することができ、この官能基を利用して、ヌクレオチド、蛋白質、抗体、酵素、細胞、標識剤、医薬品有効成分化合物などを化学結合させることができる。かくして得られる微粒子は医薬品、診断剤、薬剤などの分析試薬の分離・精製剤などとして、殊に医療・診断分野で有効である。

【0029】

勿論、上記貴金属および磁性金属酸化物は人体に対して安全であり、また本発明方法ではその製造工程で有害な試薬などを利用する必要もないため、得られる微粒子自体、医療分野などへの適用の際の安全性に優れたものである。

【0030】

しかも、本発明微粒子は、前記した各性質を長期に亘って安定して保持する耐久性があり、その取り扱いも容易である利点を有している。

【0031】

【発明の実施の形態】

本発明微粒子は、貴金属イオンまたは貴金属錯体を含有する液に、磁性金属酸化物微粒子を分散させるか、または該磁性金属酸化物を与える金属イオンを添加存在させ、次いで該液に超音波、電離放射線または紫外線を照射することによって製造できる。該照射によれば、原料とする磁性金属酸化物微粒子の表面に(金属イオンを利用する場合はまず磁性金属酸化物微粒子が形成され、次いでその表面に)、還元された貴金属のナノ粒子(貴金属原子)が析出する。

【0032】

ここで、貴金属イオンまたは貴金属錯体を構成する貴金属としては、金、銀、白金、パラジウム、ルテニウム、ロジウム、イリジウム、レニウムなどの金属を挙げることができる。これらの内でも金、銀などは、その表面プラズモン吸収が可視領域にあり、これを担持させて得られる本発明微粒子は、該プラズモン観測によってその存在を容易に目視できる利点がある。このことから、本発明微粒子

によって、例えば抗原抗体反応の進行の有無が目視により確認できる。

【0033】

貴金属イオン含有液は、上記貴金属イオンを含む水溶液またはアルコール溶液である。その調製は、通常の方法に従って、貴金属イオンを与える適当な化合物を水もしくはアルコール、または塩酸、硫酸、硝酸などの酸（アルコールなどの有機物を含んでいてもよい）に溶解させることにより行い得る。適当な化合物としては、例えば硝酸銀、塩化金酸、塩化パラジウムなどの貴金属の硝酸塩、塩化物、硫化物、酢酸塩、クエン酸塩、硫酸塩、炭酸塩、酸化物、水酸化物などを挙げることができる。中でも、水に易溶で比較的安価な、塩化物や硝酸塩の水溶液、酸化物の塩酸溶液、硝酸溶液などは好ましい。調製される貴金属イオン含有液の濃度は、特に制限されないが、一般には貴金属イオン含有液中の貴金属イオンの濃度が、 $1\mu\text{M}$ – 1M 程度、好ましくは 0.1 – 10mM 程度となる範囲から選ばれるのが適当である。

【0034】

貴金属錯体を含有する液としては、上記各貴金属のイオンに適当な配位子が配位した化合物の水溶液もしくはアルコール溶液を挙げることができる。配位子は、共有電子対もしくは負電荷をもっている限り特に限定されず、各種のものから選択することができる。具体的には、例えば単座配位子としての、ハロゲン化物イオン(F^- , Cl^- , Br^- , I^- など)、シアン化物イオン(CN^-)、アンモニア(NH_3)、ピリジンなど；二座配位子としてのエチレンジアミン($\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$)、アセチルアセトンイオンなど、六座配位子としてのエチレンジアミンテトラ酢酸イオンなどを挙げることができる。

【0035】

上記貴金属イオンまたは貴金属錯体を含有する液には、必要に応じて更にポリビニルアルコールなどの水溶性高分子化合物；界面活性剤；例えばアルコール類、カルボン酸類、ケトン類、炭化水素類、ハロゲン化炭化水素類などの各種の有機溶媒などの添加剤を添加することができる。これらの添加剤は、金属イオンの還元反応速度を促進したり、生成する金属粒子の大きさを整えるのに有効な場合がある。

【0036】

本発明方法においては、まず、上記貴金属イオンまたは貴金属錯体を含有する液中に、磁性金属酸化物微粒子を分散させるか、または該磁性金属酸化物を与える金属イオンを添加存在させる。ここで用いられる磁性金属酸化物微粒子は、磁性を有する微粒子である限り特に制限はない。その具体例としては、酸化鉄(とりわけ磁鉱、マグヘマイト、フェライトなどの Fe_2O_3 を主成分とする磁性酸化物など)の微粒子を挙げることができる。特に好ましい具体例としては、 Fe_2O_3 、 Fe_3O_4 、フェライトなどの磁性微粒子を挙げることができる。その他の金属の酸化物、例えばコバルト、ニッケルなどの酸化物、これらの金属の金属間化合物またはこれらの金属と鉄との金属間化合物、例えば CoPt 、 FePt などの酸化物、またはこれら各金属の合金、例えば Co/Ni 、 Co/Fe 、 Ni/Fe などの2元合金、 Co/Fe/Ni などの3元合金などの酸化物も、本発明における磁性金属酸化物微粒子として利用することができる。

【0037】

本発明に利用する磁性金属酸化物微粒子は、通常 1nm – $100\mu\text{m}$ の粒子径を有しているものでよい。特に好ましい粒子径としては、ナノ粒子と呼ばれるサイズ、一般には $1\mu\text{m}$ 以下、好ましくは 1 – 500nm 程度、より好ましくは 5 – 200nm 程度を挙げることができる。

【0038】

上記磁性金属酸化物微粒子およびその製造法は、公知である。例えば該微粒子はPVS(Physical Vapor Synthesis)法 (http://www.nanophase.com/technology_primer.shtml#PVS参照) などの方法に従って製造することができる。また、磁性金属酸化物微粒子は、既に市販されており、本発明ではこのような市販品、例えば、Nanoteck社製を利用することもできる。

【0039】

磁性金属酸化物微粒子の貴金属イオンまたは貴金属錯体を含有する液中への分散量は、通常 0.001 – 50 重量%程度、好ましくは 0.1 – 10 重量%程度となる量範囲から選ばれる。この範囲内での利用によって、所望の特性を有する本発明微粒子を得ることができる。

【0040】

本発明者らは、上記磁性金属酸化物微粒子に代えて、該微粒子を構成する金属のイオンを利用する場合にも、本発明所期の貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子が同様に製造できることを確認している。この場合、金属イオンは、例えば前述したFe, Co, Niなどの金属を塩酸、硫酸、硝酸などの酸（アルコールなどの有機物を含んでいてもよい）に溶解させた液の形態、前述した金属塩や金属錯体の形態、もしくはこれら金属塩や金属錯体を適当な液中に溶解させた形態で、前記貴金属イオンまたは貴金属錯体を含有する液中に配合すればよい。その配合量は、配合した金属イオンから形成される磁性金属酸化物微粒子が、前記と同様の濃度となる量、通常金属イオンとして0.01mM-1Mから選ばれるのが適当である。

【0041】

本発明方法においては、次いで上記の如くして調製される磁性金属酸化物微粒子(もしくはこれを与える金属イオン)を存在させた貴金属イオンまたは貴金属錯体を含有する液に、超音波、電離放射線または紫外線を照射する。

【0042】

この照射によって、所望の磁性金属酸化物微粒子表面に貴金属原子もしくはナノ粒子を接合させた本発明微粒子を得ることができる。その理由は、現在尚全て解明されたわけではないが、照射される超音波、電離放射線または紫外線のエネルギーによって、液中の貴金属イオン(もしくは錯体)が還元されて磁性金属酸化物微粒子表面に原子状の貴金属単体を析出させるものと推定される。尚、磁性金属酸化物微粒子表面への貴金属単体の析出は、例えば後記する実施例に従って得られた本発明微粒子のTEM写真撮影結果などからも確認できる。

【0043】

より詳しくは、磁性金属酸化物微粒子が水溶液中に懸濁している状態で、超音波、電離放射線および紫外線といった化学エネルギーより遙かに高い励起を受けると、次のようにして本発明微粒子(複合微粒子)が形成されると推測できる。即ち、超音波、電離放射線などは、周知の通り、水溶液中でそれぞれ、気泡（キャビティ）発生や電離によって、空間的にかつ時間的に限られた領域内で還元力および酸化力の高い化学種を発生させる。これらの化学種の作用で発生する貴金属

ナノ粒子は生成直後にはその表面の反応性が高く、それ故、共存している磁性金属酸化物微粒子と出会うと強く結合する。

【0044】

また、超音波、電離放射線などが磁性金属酸化物微粒子とその分散媒としての水とからなる非均質系に作用する場合、その物質相の差異が際立つ両者の界面においてその作用の強さに不均一性が生じ、界面近傍での酸化還元反応の確率が高まることも推測できる。特に、電離放射線が比較的密度の高い固体により強く吸収されることは周知である。

【0045】

更に、界面活性剤などが存在する水系に超音波を照射すると、還元剤として作用する様々な有機ラジカルなどが発生する。電離放射線および紫外線の照射の場合も、非常に高いエネルギーの光子などの衝突によって、同様のラジカルが発生する。これらの生成によって、本発明微粒子の生成速度、粒子の大きさなどが調整できると考えられる。

【0046】

一方、磁性金属酸化物微粒子を与える金属イオンを共存させる系の場合、超音波、電離放射線などの照射によって、溶液中で酸化還元反応が起こることに加えて、溶媒である水もしくは溶存ガス中に含まれる酸素などによる酸化反応も逐次的に進行する。これらの化学反応を経由して、金属イオンから磁性金属酸化物が生成する。一方、貴金属ナノ粒子は化学的安定性が高いために酸化されず、最終的に貴金属・磁性金属酸化物複合微粒が生成されると考えられる。

【0047】

超音波、電離放射線および紫外線の照射は、貴金属イオンが還元されて貴金属原子が析出する条件（磁性酸化物微粒子を与える金属イオンを利用する場合は、磁性酸化物微粒子が生成すると共に、その表面に上記と同様に貴金属原子が析出する条件）で実施することができる。

【0048】

超音波照射は、通常、周波数10kHz-10MHz、出力1W以上の条件で実施することができる。該超音波照射は、より好ましくは例えばアルゴン(Ar)などの不活性ガ

ス置換雰囲気中で行われる。好ましい照射条件の一例としては、周波数200kHz、出力200W、照射時間1-300分間の条件を挙げることができる。

【0049】

電離放射線（ α 線、電子線、陽子などの荷電粒子および中性子、X線、 γ 線などの非荷電粒子）および紫外線照射は、通常、吸収線量1J/kg以上、好ましくは1-1,000,000J/kgの条件で実施できる。特に、電離放射線として γ 線を利用する場合、該 γ 線は、線量1Gy以上の条件で実施するのが好ましい。 γ 線照射の好ましい具体例としては、放射線源として例えばコバルト60 γ 線源（ γ 線光子のエネルギー：1.25 MeV）を用いて、線量率約3kGy/h、照射時間1-18時間の条件で実施する例を挙げることができる。

【0050】

かくして、本発明微粒子の分散液を得ることができる。この液は、そのまま分散液として、各種用途に利用することができる。また、該液に分散されている本発明微粒子は、その磁性を利用して、適当な磁石などによって磁気分離後、乾燥することによって、粉末製品形態として回収することができる。該粉末製品は、そのまままたはこれを水などの適当な分散媒中に再分散させて、各種用途に利用することができる。

【0051】

本発明方法によれば、前述したように、特に医療・診断分野における応用に適した要求性能を満たす微粒子の製造が可能であり、得られる微粒子はそのような医療・診断分野を初めとして、バイオテクノロジー分野、環境関連分野などの広範な各種分野において、新しい材料として有用である。

【0052】

本発明微粒子の代表的用途としては、医療・診断分野における用途を挙げることができる。この用途には、例えば医薬品(DDSにおける薬剤など)；診断剤；各種物質(医薬品有効成分化合物、抗原、抗体、レセプター、ハプテン、酵素、蛋白質、ペプチド、核酸、ホルモン、病原体、毒素など)の分析試薬；細胞などの分離・精製剤（細胞標識剤、酵素固定剤、蛋白質精製剤など）などが含まれる。特に、本発明微粒子は、液媒に分散可能で、均一系とみなし得る分散液を提供で

きるものであり、また微粒子形態に基づく広い表面積を有しているため、上記診断剤、分析試薬、分離・精製剤などとして、迅速且つ高精度に所望の結果を提供できる。しかも、本発明微粒子は、その分離、回収を磁気により容易に行い得る利点もある。

【0053】

上記分析試薬、分離精製剤などとしての利用に当たり、本発明微粒子は、そのまま、またはこれを適当な担体に担持させた形態で、各種のクロマトグラフィー、例えば高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、カラムクロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィーに利用することができる。殊に、本発明微粒子は磁性を有するので、その回収や洗浄が容易となる利点があり、磁場配向を利用することにより本発明微粒子を規則的かつ緻密に充填できる利点もある。

【0054】

また、本発明微粒子は、土壌改質、水質もしくは大気の浄化などに利用することもできる。本発明微粒子の土壌改質への応用例としては、例えば、後述するように、環境ホルモンを捕捉できるリンカー分子が結合された本発明微粒子の利用例を挙げることができる。この応用例によれば、土壌に大量に含まれる他の化合物(フミン質やフルボ酸など)は捕捉せずに、環境ホルモンだけを選択的にかつ効率良く捕捉することができる。このように、本発明微粒子の利用によれば、選択性の高い捕捉能と磁気分離技術とを併用して、効率的な土壌の浄化が可能である。また、本発明微粒子は、上記土壌改質と同様にして、水質もしくは大気の浄化にも適用可能である。

【0055】

更に、本発明微粒子は、触媒、吸着剤、センサーなどとして利用することもできる。このような利用例でも、本発明微粒子は磁性を有することに基づいてこれを規則的かつ精密に配列させ得、これにより高集積化が可能である。また、本発明微粒子は、その回収が容易であることから、リサイクルのできる材料として有効である。

【0056】

これらの各種用途への利用に当たり、本発明微粒子は、一般には、その表面に担持された貴金属原子に適当な官能基を付与して、ヌクレオチド、蛋白質、抗体、酵素、細胞、標識剤、医薬品有効成分化合物などの被検物質と化学結合(共有結合)する能力を与える。上記官能基およびその付与は、当業界において既に知られている。例えば官能基としては、金属と結合し得る基、具体的にはアミノ基、ヒドロキシル基、カルボキシラート基、-SH基、エーテル基、イミノ基、リン酸残基、スルフィド残基などを挙げることができる。官能基の付与は、これら各官能基に応じてそれぞれ常法に従うことができる。例えば-SH基の付与は、リンカー分子として線状アルカンジチオール、グルタチオン、ホスホロチオエートなどを用いて常法に従って実施できる。本発明は、このようにして調製されるリンカー分子を結合させた本発明微粒子をも提供する。

【0057】

尚、本発明微粒子と被検物質との結合は、上記のようにリンカー分子を介して行われるものであるから、可能な場合は、本発明微粒子表面へのリンカー分子の結合に代えて、これと結合すべき被検物質へのリンカー分子の導入を行ってもよい。

【0058】

特に、本発明微粒子は磁性を有していることに基づいて、上述した医療・診断分野における利用の際、被検物質との結合物を容易に磁気分離できる利点がある。

【0059】

【実施例】

以下、本発明を更に詳しく説明するため実施例を挙げる。

【0060】

【実施例1】

(1)本発明微粒子の調製のための磁性微粒子の調製

磁性ナノ粒子として、PVS (Physical Vapor Synthesis, http://www.nanophase.com/technology__primer.shtml#PVS)法により得られた市販品 (Fe₂O₃ナノ粒子、商品名: NanoTek(登録商標) Iron Oxide, Nanophase Technologies Corporati

on製、安達新産業株式会社より入手、平均粒径23nm) を利用した。

【0061】

(2) 本発明微粒子の調製

1重量%PVA水溶液50mL中に、上記(1)の磁性ナノ粒子 (平均粒径23nm) 49.2mg、 HAuCl_4 8.5mgおよび2-プロパノール0.472mLを加えて原料ナノ粒子分散液を調製した。上記分散液をガラス製バイアルビン (容量70 mL) に封入後、これに線量率約3kGy/hで、攪拌しながら3時間 γ 線を照射した (室温)。 γ 線照射条件は次の通りとした。

【0062】

放射線源: コバルト60 γ 線源 (γ 線光子のエネルギー: 1.25 MeV)

線源強さ: 約7000キュリー

かくして、本発明微粒子 (貴金属・金属酸化物複合微粒子) を分散させた液を得た。

【0063】

(3) 本発明微粒子 (粉末) の単離

上記(2)で得られた分散液に、これを収容しているガラス製バイアル瓶の外部から直径30mm、高さ10mmの円柱型磁石 (表面磁束密度: 445mT) により磁場をかけ、1-24時間静置した。その後、バイアル瓶を開封し上澄み液を回収し、残部は再度これに水50mLを加えて分散液を調製した。また、該残部はこれを乾燥することにより粉末形態の本発明微粒子を得ることができる。

【0064】

(4) 本発明微粒子の性状試験

(4-1) 吸光度分析

上記(2)で得られた分散液 (本発明微粒子を含む、磁気分離前) および上記(3)で調製した本発明微粒子の再分散液 (磁気分離後、磁性成分という) および比較のため磁気分離後に回収した上澄み液 (非磁性成分という) について、それぞれ水で10倍希釈後 (但し非磁性成分は希釈せず)、以下の条件で吸光度分析を行った。

<吸光度分析条件>

測定機種: Varian Cary 50 (Varian, Inc.)

測定条件: 光路長1cmのディスポーザブルセルを利用

結果を図1(aおよびb)に示す。各図において横軸は波長(nm)を示し、縦軸は吸光度を示す。図1のbにおいて(1)は磁性成分を示し、(2)は非磁性成分を示す。また、図1のaおよびbにおける矢印はAuナノ粒子に起因する表面プラズモン吸収を示す。

【0065】

図1のaに示される結果から、磁気分離前の本発明微粒子の分散液では微粒子に担持された金に起因する表面プラズモン吸収が、ほぼ550nm付近に観察された。

【0066】

また、図1のbに示される結果においても、磁性成分では、同様のプラズモン吸収が観察された。これに対して、非磁性成分ではそのようなプラズモン吸収は観察できなかった。このことから、磁気分離によって、金を担持したナノ粒子が分離されることが明らかとなった。

【0067】

(4-2) X線回折測定(XRD)

前記(3)と同様にして磁気分離した本発明微粒子(粉末)試料について、XRD測定[測定機種: Rigaku RINT2100-Ultima(理学電機株式会社製)、Cu-K α 1を用いて測定]した。

【0068】

結果を図2(横軸: 2θ 、縦軸: 強度比(絶対単位))に示す。

【0069】

図2に示される結果から、磁気分離した本発明微粒子は、金に由来するピークが $2\theta=37-38$ 付近に確認された。このことから、本発明微粒子は、金を担持するものであることが確認された。

【0070】

(4-3) 透過型電子顕微鏡(TEM)観察

本発明微粒子粉末試料(前記(3)と同様にして調製したもの)のTEM観察による撮影写真を図3(倍率50000 \times)および4(倍率100000 \times)に示す。

【0071】

各図に示されるとおり、本発明微粒子は Fe_2O_3 ナノ粒子表面に微小なAu粒子（平均粒径約5nm）が多数担持されているものであることが明らかである。

【0072】

(4-4) グルタチオン (GSH) 吸着試験

前記(3)で調製した本発明微粒子の再分散液（磁気分離後の磁性成分、本発明液とする）および比較のため本発明微粒子の製造のための原料とした磁性ナノ粒子(Fe_2O_3)49.2mgを1重量%PVA水溶液50mL中に分散させた比較液A、同磁性ナノ粒子(Fe_2O_3)49.2mgを水50mL中に分散させた比較液B、並びにAuナノ粒子（平均粒径：約5nm）4.92mgを1重量%PVA水溶液50mL中に分散させた比較液Cについて、各液にそれぞれグルタチオン (GSH) を初期濃度100 μM となる量で添加し、2時間攪拌後、前記(3)と同様にして微粒子を磁気により捕集し、フィルターを用いて分離した。微粒子を分離した残りの上澄み液について、後述する吸光度分析によりGSH濃度を求めた。該残留濃度を初期濃度から差し引いたものが微粒子に結合したものとして、各微粒子のGSH結合性を検討した。

【0073】

上澄み液に残留しているGSH濃度の定量は、既知の手法を用いて行った（株式会社同仁化学研究所、<http://www.dojindo.co.jp/wwwroot/productsj/info2/protocol/pl1.pdf>参照）。

【0074】

具体的には、微粒子を除去した残りの上澄み液0.9mLに対して、発色試薬としてスルホサリチル酸水溶液（濃度5重量%）を0.1mL、2-ニトロ安息香酸水溶液（濃度1mM）を1mLおよびリン酸塩pH標準液（pH7.41）を9mL加え、紫外可視分光光度計を用いて波長412nmでの吸光度からGSH濃度を定量した。

【0075】

尚、利用した金ナノ粒子分散液は、文献記載の方法（例えば、New J. Chem., 1998, pp. 1239-1255参照）に準じて、以下のようにして製造した。即ち、1重量%PVA水溶液50mL中に、 HAuCl_4 8.5mgおよび2-プロパノール0.472mLを加えた水溶液を調製し、該水溶液をガラス製バイアルビン（容量70 mL）に封入後、これに線量率

約3kGy/hで、攪拌しながら3時間 γ 線を照射(室温)して、金ナノ粒子を分散させた液を得た。 γ 線照射条件は次の通りとした。

【0076】

放射線源：コバルト60 γ 線源 (γ 線光子のエネルギー：1.25 MeV)

線源強さ：約7000キュリー

結果を下記表1に示す。

【0077】

【表1】

試料	Fe ₂ O ₃ (g/L)	Au(g/L)	PVA	残留GSH 濃度(μ M)	結合GSH 濃度(μ M)
本発明液 (本発明微粒子)	0.984	0.0984	有	28	72
比較液A (Fe ₂ O ₃ 微粒子)	0.984	-	有	77	23
比較液B (Fe ₂ O ₃ 微粒子)	0.984	-	無	58	42
比較液C (Au微粒子)	-	0.0984	有	60	40

【0078】

表1に示される結果から、本発明微粒子には多量のGSHが結合(チオール結合)することが判った。特にこの結合量(72 μ M)は比較液Aにおける同値(23 μ M)と比較液Cにおける同値(40 μ M)との合計量よりも大きかった。このことは本発明微粒子においては、金ナノ粒子が微粒化してFe₂O₃微粒子表面に高分散状態で結合、担持され、比較液Cにおける金ナノ粒子よりも更に高い表面積を有することに基づくと考えられる。

【0079】

以上の試験結果から、本発明微粒子は、前述したように、リンカー分子を介して例えば抗原、酵素、蛋白質、細胞などの各種の薬剤などを結合させることができ、これによって医薬品、診断剤、標識剤、酵素固定剤などとして利用できるこ

とが判った。

【0080】

尚、PVA非存在下では、 Fe_2O_3 ナノ粒子表面にも多少のGSHが結合するが、PVA存在下では、その結合性が低下することも判った。

【0081】

【実施例2】

実施例1の(2)において1重量%PVA水溶液をPVA非添加の水に代える以外は同様にして微粒子分散液を得、これをガラス製フラスコ(容量150mL)中に封入し、内部空気をアルゴンガスで置換後、下記条件で超音波照射した。

【0082】

周波数: 200kHz

出力: 200W

照射時間: 20分間

かくして、本発明微粒子(貴金属・金属酸化物複合微粒子)を分散させた液を得た。

【0083】

このものを、実施例1の(3)に記載の方法により磁気分離して粉末を得た。かくして得られた粉末は、実施例1の(4)に記載のXRDおよびTEMによって、同様に、 Fe_2O_3 微粒子表面に微小なAuナノ粒子(平均粒径約40nm)が多数担持されているものであることが明らかとなった。そのTEM観察による撮影写真(倍率50000×)を図5に示す。図において、コントラストの高い粒子がAuナノ粒子である。Auナノ粒子同士の合体がほとんど観察されていないことから、Auナノ粒子間の結合よりもAuナノ粒子と Fe_2O_3 ナノ粒子との間で起こる結合の方が強いことが明らかとなった。

【0084】

【実施例3】

実施例1の(2)において1重量%PVA水溶液をPVA非添加の水に代える以外は同様にして本発明微粒子分散液を得、このものから実施例1の(3)と同様にして粉末形態の本発明微粒子を単離した。

【0085】

得られた本発明微粒子のTEM観察による撮影写真(倍率50000×)を図6に示す。該図に示されるとおり、平均粒径約140nmのAuナノ粒子が生成していることが確認された。更に、該Auナノ粒子の表面に多数のFe₂O₃ナノ粒子が結合していることが明らかとなった。この結果から、Auナノ粒子とFe₂O₃ナノ粒子との間で強い結合力が存在することが示された。

【図面の簡単な説明】

【図1】

実施例1で製造した本発明微粒子分散液の吸光度分析結果を示すグラフである。

【図2】

実施例1で製造した本発明微粒子のX線回折測定結果を示すグラフである。

【図3】

実施例1で製造した本発明微粒子の透過型電子顕微鏡観察結果を示す図面代用写真である。

【図4】

実施例1で製造した本発明微粒子の透過型電子顕微鏡観察結果を示す図面代用写真である。

【図5】

実施例2で製造した本発明微粒子の透過型電子顕微鏡観察結果を示す図面代用写真である。

【図6】

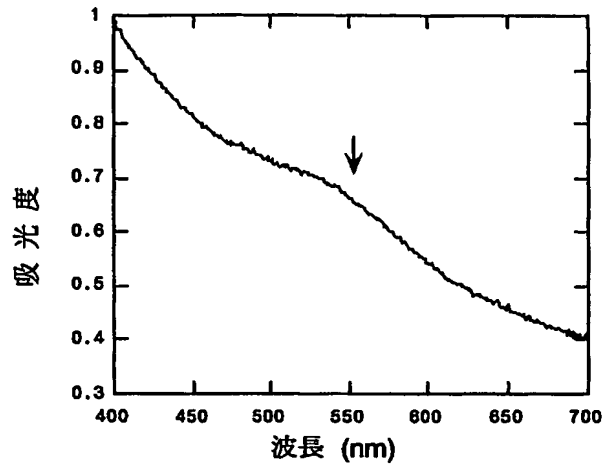
実施例3で製造した本発明微粒子の透過型電子顕微鏡観察結果を示す図面代用写真である。

【書類名】

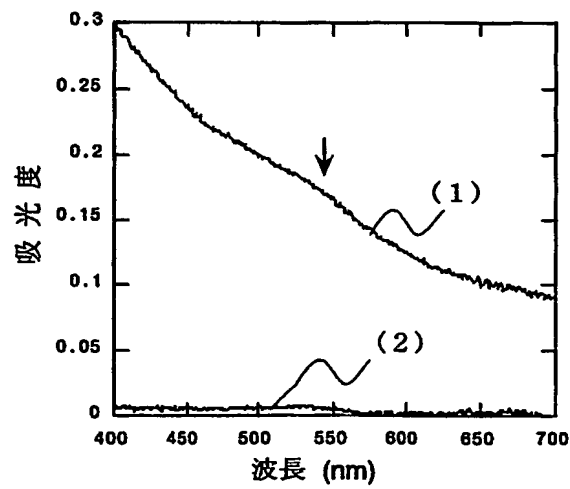
図面

【図1】

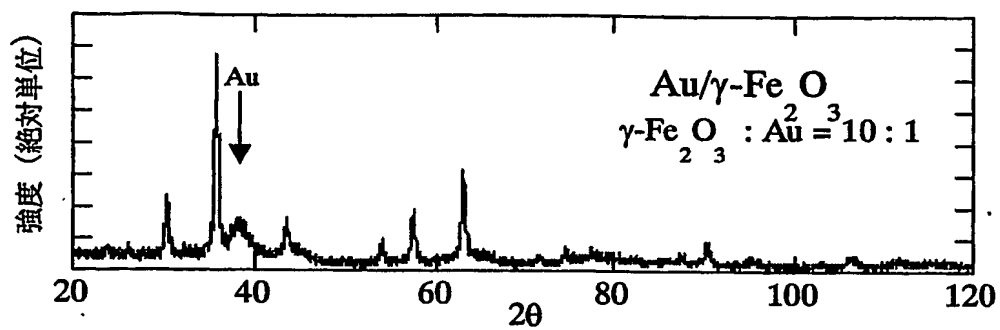
a



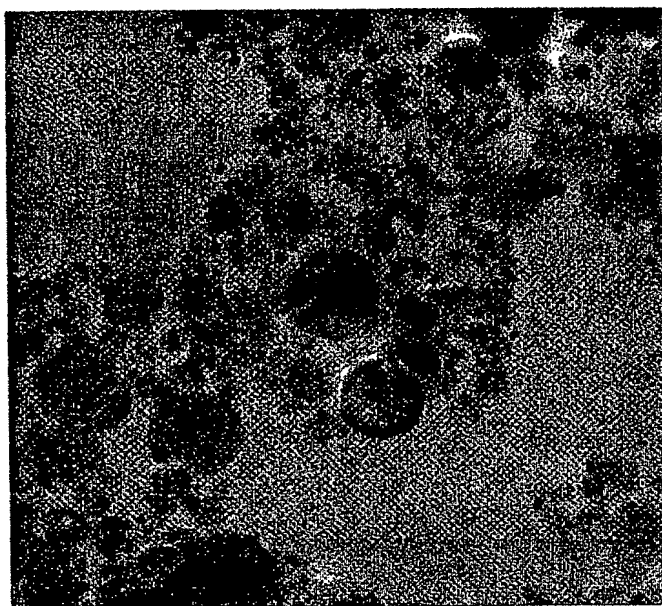
b



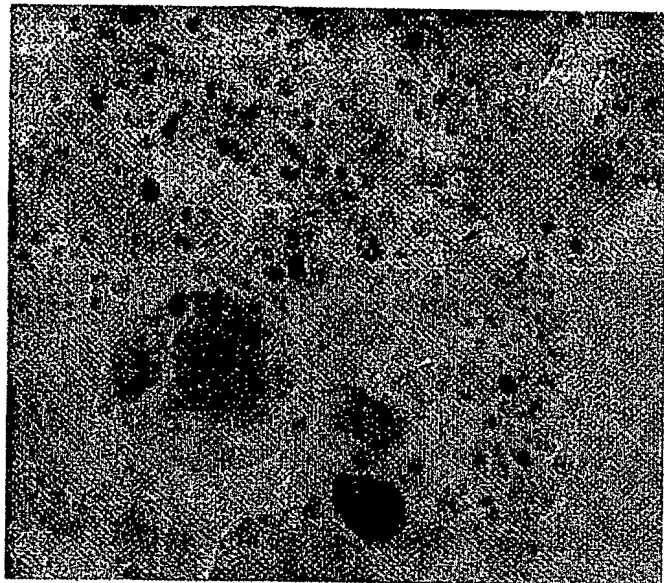
【図2】



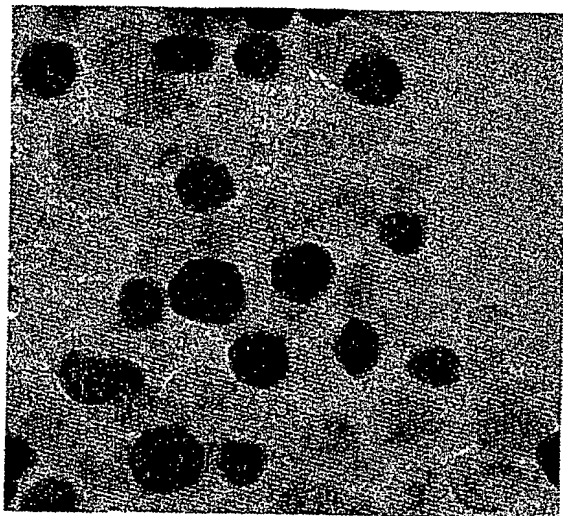
【図3】



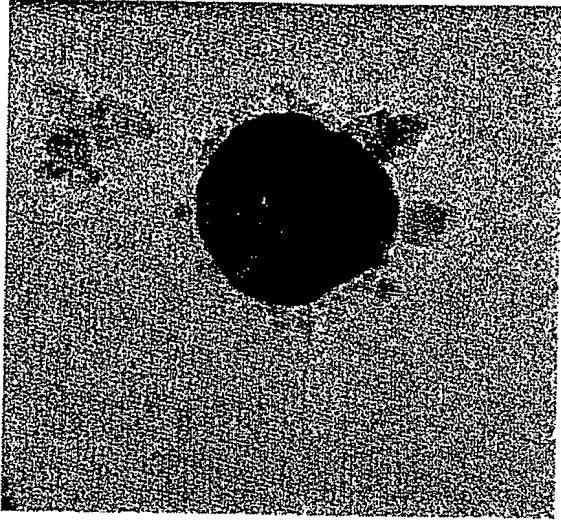
【図4】



【図5】



【図6】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 殊に医療分野などにおいて有用な、磁性を有し且つ表面に官能基を付与できる新しい複合微粒子、およびこれを高収率で、安定して、量産する技術を提供する。

【解決手段】 貴金属イオン含有液に磁性金属酸化物微粒子を分散させるか、または該磁性金属酸化物を与える金属イオンを添加し、該液に超音波、電離放射線または紫外線を照射することを特徴とする貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子の製造法、および該方法によって得られる、粒子径1nm-100 μ mの磁性金属酸化物微粒子と該微粒子表面に接合された粒子径1-500nmの貴金属原子とからなり、磁性を有する貴金属・磁性金属酸化物複合微粒子。

【選択図】 なし

特願 2003-072611

ページ： 1/E

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[899000046]

1. 変更年月日
[変更理由]

2002年 8月 2日

住所変更

住 所
氏 名

京都府京都市下京区中堂寺栗田町93番地
関西ティー・エル・オー株式会社